

Title	Alteration of Membrane Oligosaccharides by Castanospermine, an Alpha Glucosidase Inhibitor, Enhances Immunoglobulin Production in Staphylococcus aureus Cowan I-Stimulated Lymphocyte Culture
Author(s)	烏野, 隆博
Citation	
Issue Date	
oa:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37625">https://hdl.handle.net/11094/37625</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・（本籍）	からす	の	たか	ひろ
	鳥	野	隆	博
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9	4	8
学位授与の日付	平成	3	年	2
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	Alteration of Membrane Oligosaccharides by Castanospermine, an Alpha Glucosidase Inhibitor, Enhances Immunoglobulin Production in Staphylococcus aureus Cowan I-Stimulated Lymphocyte Culture (B細胞分化における細胞表面糖鎖に関する研究: Staphylococcus aureus Cowan I 誘導 B細胞分化に対する $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤の影響)			
論文審査委員	(主査) 教授 垂井清一郎	(副査) 教授 木谷 照夫	教授 谷口 直之	

## 論文内容の要旨

### 【目 的】

B細胞の増殖分化にはB細胞とT細胞との細胞間相互作用およびサイトカインの存在が必要とされる。近年、N-グリコシド型糖鎖が細胞間相互作用やサイトカイン受容体機能に重要な役割を果たしていることが報告されているが、B細胞増殖分化における意義についてはほとんど検討されていない。

本研究では、B細胞増殖、分化においてN-グリコシド型糖鎖の果たす役割を明らかにするために、正常人リンパ球のStaphylococcus aureus Cowan I (SAC) 培養系に、カスタノスペルミン (CSP) (N-グリコシド型糖鎖のプロセッシングの最初期に作用する $\alpha$ -グルコシダーゼの阻害剤) を添加することにより、CSPによる糖鎖組成の変異がSAC誘導B細胞分化に及ぼす影響について検討した。

### 【方法及び成績】

- (1) 正常人末梢血より比重遠心法により分離した単核球から付着単球を除き末梢リンパ球を得た。CSP (20  $\mu$ g/ml) の存在下にSACと共に培養すると、7日目には上清IgGはCSP無添加control に比べ約2倍に増加した。またブラーク法によって計測したIgG, IgA, IgM各クラスの免疫グロブリン産生細胞 (ISC) 数もそれぞれ約2倍に増加した。CSP添加を1日ずつ6日目まで遅らせると、CSPによるIg産生の増加は培養初日に添加した時に最大であり、3日目以降に添加しても無添加control と差がなかった。またIgG骨髓腫患者骨髓から得た骨髓腫細胞にCSPを添加しても上清IgGは増加しなかった。
- (2) 末梢リンパ球より羊ロゼット法により得たT, B細胞分画をCSPと共に18時間培養した後、末処理のB, T細胞とを各々混合しSACと共に交差培養を行った。CSP処理B細胞と末処理T細胞とを交差

培養した場合上清 IgG は未処理 B, T 細胞を培養した control に比べ約 2 倍に増加したが, CSP 処理 T 細胞と未処理 B 細胞とを交差培養しても control と差がなかった。

(3) CSP による B 細胞増殖の機序を明らかにするために, CSP 処理 B 細胞の T 細胞由来液性因子 (TSF) に対する反応性を検討した。T 細胞を phytohemagglutinin と phorbol myristate で刺激後 30 時間培養しその上清を TSF とした。SAC 存在下で B 細胞分画と TSF とを 72 時間培養し  $^3\text{H}$ -thymidine の取り込みを測定したところ, CSP 処理 B 細胞の TSF に対する反応性は未処理 B 細胞に比べて有意に亢進した。

(4) CSP の作用を受けた細胞ではその表面に高マンノース型糖鎖の増加が予想される。マンノースを認識する Concanavalin A (Con A) を用いて, CSP 処理 B 細胞表面の糖鎖変異の有無を検討した。CSP と共に 18 時間培養した B 細胞に種々の濃度の  $^3\text{H}$ -Con A を添加した放射活性を測定したところ, CSP 処理細胞は未処理の B 細胞に比べて有意に高い Con A 結合性を示した。

#### 【総括】

- (1) 正常人末梢リンパ球 SAC 培養系に CSP を添加すると, IgG 分泌量および Ig 分泌細胞数がほぼ平行して増加した。CSP は成熟形質細胞すなわち SAC 培養後期の Ig 産生細胞および骨髓腫細胞の Ig 分泌には影響を及ぼさなかった。CSP による Ig 産生の増加は個々の細胞の分泌能の亢進によるよりも Ig 分泌細胞数の増加によると考えられた。
- (2) Ig 分泌細胞数増加の機序は, SAC 培養初期のリンパ球に CSP が作用し B 細胞の TSF に対する反応性が亢進したことに基づくことを明らかにした。
- (3) SAC 誘導 B 細胞分化過程において, 細胞膜表面の N-グリコシド型糖蛋白質糖鎖がサイトカインによる増殖機構に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は, B 細胞増殖・分化における N-グリコシド型糖鎖の果たす役割を明らかにするために, *Staphylococcus aureus* Cowan 1 (SAC) で刺激した正常人リンパ球の培養系に, N-グリコシド型糖鎖のプロセッシングの阻害剤であるカスタノスペルミン (CSP) を添加し, CSP による糖鎖組成の変異が SAC 誘導 B 細胞増殖および分化に及ぼす影響について検討したものである。

その結果, CSP が分化初期の B 細胞に作用し B 細胞の T 細胞由来液性因子に対する反応性を亢進させ, 分化後期の免疫グロブリン分泌細胞が増加することを明らかにした。

本研究は, 細胞膜表面の N-グリコシド型糖蛋白質糖鎖がサイトカインによる B 細胞増殖分化機構に重要な役割を果たしていることを実証したものであり, これは従来知られていなかった新知見で, 学位に値すると思う。